



## **POTENSI RUMPUT LAUT *Sargassum duplicatum* SEBAGAI SUMBER SENYAWA ANTIFOULING**

**Ika Wulan Santi<sup>\*)</sup>, Ocky Karna Radjasa, Ita Widowati**

*Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas  
Diponegoro Kampus Tembalang, Semarang 50275 Telp/Fax. 024-7474698*

Email : Journalmarineresearch@gmail.com

### **A B S T R A K**

Biofouling di laut menyebabkan kerusakan pada lambung kapal dan merusak infrastruktur kelautan lainnya. Rumput laut genus *Sargassum* banyak dilaporkan sebagai alternatif sumber senyawa *antifouling* alami yang ramah lingkungan. Penelitian ini menggunakan *S. duplicatum* dari Perairan Teluk Awur Jepara yang diekstrak dengan berbagai pelarut (n-heksana, etil asetat dan metanol) untuk mengetahui potensi ekstrak sebagai antifouling dan golongan senyawanya serta untuk mengidentifikasi jenis bakteri biofilm yang sensitif terhadap ekstrak. Bakteri biofilm diisolasi dari panel kayu dan *fiberglass* yang dibenamkan di laut selama 2 minggu. Uji aktivitas *antimicrofouling* menggunakan metoda *disc diffusion*, uji fitokimia menggunakan metoda Harborne (1987) dan uji biokimia menggunakan metoda Cowan and Steels (1974) dan Bergey's (2005). Aktivitas *antimicrofouling* paling baik ditunjukkan oleh ekstrak etil asetat yang dapat menghambat 22 dari 34 bakteri biofilm dengan kisaran zona hambat 0,65 – 3,73 mm. Sedangkan, bakteri yang paling sensitif terhadap ekstrak *S. duplicatum* adalah bakteri K.10.3.1.4 dan F.10.3.1.2. *S. duplicatum* mengandung senyawa golongan alkaloid, saponin, quinon, fenolik, steroid, dan flavonoid. Berdasarkan identifikasi bakteri secara biokimia, bakteri K.10.4.1.5 adalah genus *Achromobacter*, sedangkan kode isolat F.10.3.1.2 adalah genus *Flavobacterium cytophaga*. Kehadiran satu atau lebih senyawa fitokimia dalam ekstrak diduga bertanggung jawab atas aktivitas antifouling yang terjadi.

**Kata Kunci :** Biofouling, Antifouling, *Sargassum duplicatum*, Ekstrak, Fitokimia

### **A B S T R A C T**

Marine biofouling causing damage to the hull and other marine infrastructure damage. Seaweed of the genus *Sargassum* has been widely reported as alternative source of natural antifouling compounds that eco-friendly. This study used *S. duplicatum* from Teluk Awur Jepara coasts, extracted with various solvents (n-hexane, ethyl acetate and methanol) to determine the potential of the extract as antifouling and group of compounds contained and to identify the type of bacteria biofilms which were sensitive to the extract. Biofilm bacteria isolated from wood and fiberglass panels submerged in the sea for 2 weeks. Antimicrofouling activity assay using the disc diffusion method, phytochemical tests method of Harborne (1987) and biochemical tests based on the method of Cowan and Steels (1974) and Bergey's (2005). The best of antimicrofouling activity indicated by the ethyl acetate extract which could inhibit 22 of 34 bacterial biofilm with zone inhibition range from 0.65 to 3.73 mm. While, the bacteria most sensitive to extracts of *S. duplicatum* were bacteria K.10.3.1.4 and F.10.3.1.2. The test results of the phytochemical content of *S. duplicatum* were alkaloids, saponins, quinone, phenolic, steroids, and flavonoids. Based on the biochemical identification of bacteria the obtained results, isolates code K.10.4.1.5 was a genus *Achromobacter*, while the code was bacterial isolates F.10.3.1.2 genus *Flavobacterium Cytophaga*. The presence of one or more compounds in the extract phytochemicals believed to be responsible for the antifouling activity occurs.

**Keywords :** *Sargassum duplicatum*, Antifouling, Biofouling, Extracts, Phytochemical

<sup>\*)</sup> Penulis penanggung jawab

## PENDAHULUAN

Permukaan substrat padat saat terendam air laut akan mengalami perubahan yang terbentuk oleh hasil penempelan organisme laut (*organism fouling*), terutama dari mikroba, diatom, teritip, *tunicates*, *bryozoan* dan spora dari ganggang laut (Bhadury and Wright, 2004). Fenomena inilah yang disebut biofouling. Implikasi dari fenomena biofouling bervariasi seperti sector perikanan dan industri perkapalan harus menghadapi konsekuensi dari biofouling (Plouguerné et al., 2010). Pada kapal, biofouling akan menambah berat kapal, meningkatkan drag hidrodinamik dan menurunkan kemampuan manuver kapal sehingga menyebabkan peningkatan biaya melalui peningkatan penggunaan tenaga kerja, bahan bakar, dan waktu docking (Bazes et al., 2009).

Pengendalian biofouling selama ini menggunakan bahan kimia pada cat antifouling. Penggunaan *Tributyltin-polishing copolymer paints* (TBT - SPC cat) menjadi cara yang paling sukses dalam memerangi biofouling. Namun, cat yang mengandung TBT memiliki efek buruk pada organisme laut non target. Park et al. (2012), telah mengevaluasi resiko ekologis yang ditimbulkan oleh TBT, setelah pemberian TBT pertumbuhan *Gomphina veneriformis* secara signifikan tertunda, indeks gonad menurun dan keseimbangan seks berubah (*imposex*) serta persentase interseks gonad juga meningkat secara signifikan pada individu betina. Mengingat ancaman yang ditimbulkan oleh TBT, Organisasi Maritim Internasional (IMO) telah mengusulkan penghapusan cat antifouling dari TBT sejak tanggal 1 Januari 2008 (Yebra et al., 2004).

Salah satu alternatif yang terbaik untuk menggantikan cat antifouling berbahan dasar TBT yaitu mengisolasi senyawa *antifouling* alami dari organisme laut. Mekanisme kimia antifouling dari

organisme laut terjadi melalui produksi metabolit sekunder yang menghalangi organisme *fouling* menempel pada permukaan substrat (Chambers et al., 2006). Rumput laut adalah salah satu produk sintesis alami yang paling produktif memiliki sejumlah metabolit bioaktif yang menunjukkan spektrum luas dari bioaktivitasnya. Senyawa bioaktif banyak dilaporkan dari rumput laut, genus *Sargassum* (*Phaeophyceae*) dikenal paling banyak menghasilkan senyawa untuk antibakteri, antitumoral, *antiherbivory* antimalaria, dan sifat antifouling (Iyapparaj et al., 2012).

Studi pendahuluan Da Gama et al. (2008), melaporkan ekstrak *S. vulgare* dari perairan Brazil dapat menghambat pembentukan byssal kerang coklat *Perna perna*. Selain itu, *S. muticum* (Bazes et al., 2009; Plouguerné et al., 2008), *S. vulgare* (Plouguerné et al., 2010), *S. granuliferum* (Habsah et al., 2011), *S. wightii* (Iyapparaj et al., 2012), *S. polysistum*, *S. echinocarpum*, dan *S. duplicatum* (Widowati et al., 2013) telah dilaporkan menunjukkan aktivitas antifouling yang signifikan. Berkaitan dengan hal tersebut, dibutuhkan penelitian lebih lanjut untuk mengkaji potensi *Sargassum* sp. sebagai senyawa antifouling yang ramah lingkungan sebagai pengganti yang kompetibel untuk biosida beracun.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum* sebagai antifouling dan golongan senyawanya serta untuk mengidentifikasi jenis bakteri biofilm yang sensitif terhadap ekstrak

## MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2013 – Maret 2014. Sampel *Sargassum duplicatum* dan bakteri biofilm diambil dari Perairan Teluk Awur, Jepara.

**Koleksi dan Ekstraksi Rumput Laut**

Sampel *Sargassum duplicatum* dimasukkan ke plastik lalu di masukkan ke *coolbox* dan dibawa ke laboratorium untuk proses ekstraksi. Sampel dicuci dengan air laut dan air tawar. Setelah proses pencucian selesai sampel dikeringkan dengan metode *Solar Tunnel Dryer* (STD) dengan suhu 60-80 °C. Sampel kering *S. duplicatum* dibuat bubuk simplisia untuk proses ekstraksi.

Ekstraksi dilakukan dengan teknik maserasi bertingkat. Sampel direndam menggunakan 3 pelarut organik dengan tingkat polaritas yang berbeda yaitu metanol (polar), etil asetat (semi polar) dan n-heksana (non polar). Maserasi bertingkat diawali dengan menggunakan pelarut n-heksana, kemudian etil asetat dan terakhir metanol. Bubuk simplisia *S. duplicatum* 50 gr dimaserasi dengan 200 ml pelarut (perbandingan 1: 4 w/v) selama 24 jam. Selanjutnya dikeringkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50 - 60° C dan tekanan rendah (500-700 mmHg vakum) (Asmaliyah, et al., 2010). Ekstrak *S. duplicatum* siap digunakan untuk uji *antimicrofouling*.

**Preparasi dan Isolasi Bakteri Biofilm**

Preparasi bakteri biofilm dilakukan dengan menggunakan modifikasi metode Sabdono et al., (2005). Panel kayu dan fiberglass berukuran 15 x 10 cm dikaitkan pada substrat perairan pada kedalaman 50 cm di bawah permukaan laut pada surut paling terendah. Panel diambil setelah perendaman 2 minggu (Widowati et al., 2013) dan dimasukkan ke dalam kotak pendingin dan dibawa ke laboratorium untuk proses isolasi bakteri *biofilm*. Panel disemprot dengan air laut steril, kemudian dilakukan pengerokan (*scrapping*) permukaan panel dengan *cutter* steril secara *aseptic*. Isolasi bakteri *biofilm* dilakukan dengan metoda pengenceran bertingkat sampai 10<sup>-5</sup> pengenceran (Sabdono et al., 2005). Hasil pengenceran 10<sup>-3</sup>-10<sup>-5</sup> ditanam pada

medium agar *Zobell 2216E* dan diratakan lalu diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam. Koloni bakteri yang didapatkan dimurnikan dengan teknik goresan (Sabdono et al., 2005).

**Uji Aktivitas Antimicrofouling**

Uji aktivitas *antimicrofouling* dilakukan antara ekstrak kasar *S. duplicatum* terhadap bakteri biofilm dengan menggunakan metoda *standard disc diffusion* (Radjasa et al., 2007). Konsentrasi ekstrak kasar yang digunakan untuk uji aktivitas *antimicrofouling* sebanyak 50 µg/disk (10 µl) (Vallinayagam et al., 2009) dan kontrol negatif (masing-masing pelarut organik yang digunakan saat maserasi). Ekstrak kasar memiliki aktivitas *antimicrofouling* apabila disekitar *paper disc* terbentuk zona bening.

**Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Sargassum duplicatum**

Ekstrak kasar *S. duplicatum* yang memiliki aktivitas *antimicrofouling* dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui kandungan golongan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan.

**Uji Alkaloid**

Sebanyak 0,1 gram ekstrak dicampur dengan 5 ml kloroform dan 5 ml amoniak kemudian dipanaskan, dikocok dan disaring. Ditambahkan 5 tetes asam sulfat 2 N pada masing-masing filtrat, kemudian dikocok dan didiamkan. Bagian atas dari masing-masing filtrat diambil dan diuji dengan pereaksi Meyer, Wagner, dan Dragendorf. Terbentuknya endapan jingga, cokelat, dan putih menunjukkan adanya alkaloid (Harborne, 1987).

**Uji Saponin**

Sebanyak 0,1 gram ekstrak dididihkan dengan 20 ml air dalam penangas air. Filtrat dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil berarti positif terdapat saponin (Harborne, 1987).

**Uji Flavonoid**

Sebanyak 0,1 gram ekstrak ditambahkan 20 ml air, dididihkan selama 5 menit kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5 ml ditambahkan serbuk Mg 0,05 mg dan 3 tetes HCl pekat pada masing-masing filtrate, kemudian dikocok. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga menunjukkan adanya flavonoid (Harborne, 1996).

#### **Uji Steroid/ Triterpenoid**

Sebanyak 0,1 gram ekstrak dilarutkan dalam 20 ml eter selama 2 jam, kemudian disaring. Selanjutnya 5 ml filtrat yang diperoleh diuapkan dalam cawan penguap sampai kering. Kemudian ditambah 2 tetes asam sulfat pekat dan 2 tetes asam asetat anhidrat. Perubahan warna dari ungu ke biru atau hijau menunjukkan adanya steroid, sedangkan terbentuknya warna merah menunjukkan adanya senyawa triterpenoid (Harborne, 1996).

#### **Uji Fenol**

Sebanyak 0,1 gram ekstrak ditambahkan 10 tetes  $\text{FeCl}_3$  1 %. Ekstrak positif mengandung fenol apabila menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam pekat (Harborne, 1996).

#### **Uji Quinon**

Sebanyak 0,1 gram ekstrak ditambahkan 10 ml etanol, dididihkan selama 5 menit dan di saring. Selanjutnya 5 ml filtrat ditambahkan 5 tetes larutan NaOH. Apabila terbentuk warna merah menunjukkan adanya kuinon (Harborne, 1996).

#### **Uji biokimia Bakteri Biofilm**

Isolat bakteri biofilm yang *sensitive* terhadap ekstrak kasar *S. duplicatum* di uji biokimia untuk mengetahui karakteristiknya. Metode yang digunakan

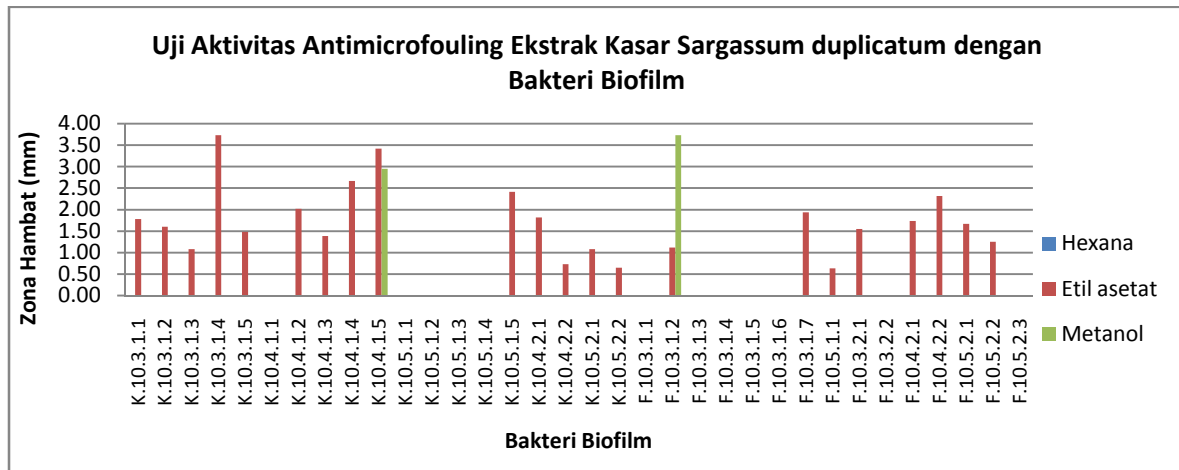
dalam uji biokimia berdasarkan Cowan and Steels (1974) dan Bergey's (2005). Uji biokimia dilakukan dalam beberapa tahap yaitu pengamatan morfologi, pewarnaan gram, dan uji biokimia meliputi uji an aerobik, uji aerobik, uji glukosa, uji indol, uji katalase, uji oksidase, uji pigmen, uji OF medium, uji reduksi nitrat dan uji VP.

#### **Analisa Data**

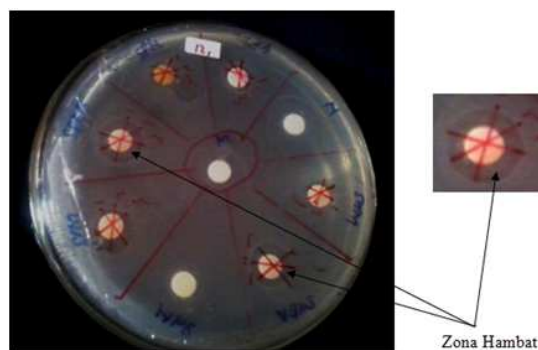
Data hasil uji *antimicrofouling* dianalisa menggunakan analisa varian *One way ANOVA* pada *software SPSS 16*. Analisa varian bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh dari penggunaan pelarut yang berbeda pada ekstrak kasar *S. duplicatum* terhadap aktivitas *antimicrofouling*.

#### **HASIL**

Hasil isolasi bakteri biofilm dari panel kayu mendapatkan 19 isolat dan dari panel *fiberglass* mendapatkan 15 isolat. Uji aktivitas *antimicrofouling* dilakukan dengan menantang ekstrak kasar dari *S.duplicatum* dengan isolat bakteri biofilm. Aktivitas *antimicrofouling* dinyatakan positif apabila terbentuk zona hambat disekeliling *paper disc* (Gambar 2). Hasil pengukuran zona hambat disajikan dalam Gambar 1. Ekstrak etil asetat dan metanol dapat menghambat bakteri dengan kode K.10.4.1.5 (3,42 mm dan 2,95 mm) dan F.10.3.1.2 (1,12 mm dan 3,73 mm). Sedangkan, untuk zona hambat terbesar pada ekstrak etil esetat bakteri biofilm K.10.3.1.4 dan ekstrak metanol pada bakteri biofilm F.10.3.1.2 yaitu sebesar 3,73 mm.



Gambar 1. Diameter Zona Hambat (mm) pada Uji Aktivitas *Antimicrofouling*



Gambar 2. Penampang zona hambat pada uji *antimicrofouling* (Dokumentasi Penelitian, 2013).

Data hasil uji aktivitas *antimicrofouling* selanjutnya di analisa dengan *One Way ANOVA* menggunakan

*software* SPSS 16 dengan menggunakan derajat kepercayaan 95%. Hasil analisis *One Way ANOVA* disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Analisa keragaman (*One Way ANOVA*) Aktivitas Antifouling ekstrak *Sargassum duplicatum* dengan Uji Lanjutan Tukey  $P < 0,05$

Source of variation	df	F	Sig.	Tukay $p < 0.05$	Pengambilan Keputusan
Pelarut	2	20,625	0.000	n-Heksana <sup>a</sup> < Metanol <sup>b</sup> < Etil asetat <sup>c</sup>	Terima $H_1$ , Tolak $H_0$

Keterangan: df = Derajat bebas, F = F hitung, Sig. = nilai Signifikasi, Hasil diurutkan berdasarkan nilai rerata dan huruf dibelakang variabel yang berbeda memiliki arti berbeda secara nyata ( $p \geq 0,05$ ).

Hasil dari pengambilan keputusan untuk analisa keragaman adalah terima  $H_1$ , tolak  $H_0$  yang berarti ekstrak kasar dari pelarut yang berbeda mempengaruhi aktivitas *antimicrofouling* (zona hambat yang terbentuk). Pengambilan keputusan ini berdasarkan nilai signifikasi yaitu Sig. (0,000) <  $\alpha$  (0,05) .

Ekstrak kasar yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri biofilm yaitu ekstrak etil asetat dan metanol dilakukan uji lanjutan yaitu uji fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa bioaktifnya. Bakteri biofilm yang paling sensitif terhadap ekstrak kasar *S. duplicatum* yaitu K.10.4.1.5 dan

F.10.3.1.2 dilakukan uji biokimia untuk mengidentifikasi jenis bakterinya.

Analisis fitokimia yang dilakukan meliputi analisis alkaloid, triterpenoid dan

steroid, saponin, fenol, flavonoid dan kuinon. Hasil uji fitokimia disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji fitokimia dari ekstrak kasar *Sargassum duplicatum*

Uji	Ekstrak Kasar		Standar (Warna)
	Metanol	Etil Asetat	
Alkaloid	+	+	Endapan jingga, coklat, putih
Saponin	+	+	Terdapat busa
Quinon	+	-	Warna merah
Fenolik	+	-	Warna hijau, merah, ungu, biru
Triterpenoid	-	-	Perubahan warna menjadi merah
Steroid	+	+	Perubahan warna menjadi biru/hijau
Flavonoid	+	+	Merah/ kuning/ jingga

Keterangan: (+) : Positif; (-) : Negatif

Tabel 2. menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dan metanol dari *S. duplicatum* mengandung berbagai golongan senyawa bioaktif. Perbedaan senyawa pada ekstrak etil asetat dan metanol adalah ekstrak metanol mengandung quinon dan fenolik, sedangkan ekstrak etil asetat tidak memiliki. Perbedaan jenis pelarut yang

digunakan dalam ekstraksi berpengaruh terhadap senyawa bioaktif pada masing-masing ekstrak.

Tujuan dari uji biokimia adalah untuk mengidentifikasi spesies dari bakteri tersebut berdasarkan morfologi dan biokimia dari bakteri. Hasil dari uji biokimia disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Biokimia Identifikasi Bakteri Biofilm dengan Menggunakan Metode Cowan and Steels (1974) dan Bergey's (2005).

Uji Biokimia	Kode Isolat	
	K.10.4.1.5	F.10.3.1.2
TCBS	-	-
Gram	-	-
Bentuk	Batang	Batang
Motility	-	-
Aerobic	+	+
An aerobic	-	-
Katalase	+	+
Moller's decarboxylase Arginine	-	-
Nitrat reduced	+	-
Oksidase	+	+
Indole	-	-
VP	-	-
Acid from Glucose	+	-
Pigmen	-	+ (orange)
OF Medium	O	NC



Keterangan: NC : No Change, O: Oksidatif

Hasil identifikasi: K.10.4.1.5: *Achromobacter*

F.10.3.1.2 : *Flavobacterium cytophaga*

Tabel 3 menunjukkan bahwa kode isolat K.10.4.1.5 adalah genus bakteri *Achromobacter*, sedangkan kode isolat F.10.3.1.2 adalah genus bakteri *Flavobacterium cytophaga*. Kedua bakteri tersebut merupakan bakteri gram negatif dengan bentuk batang.

## PEMBAHASAN

Aktivitas senyawa *antimicrofouling* ekstrak *S. duplicatum* terhadap bakteri biofilm yang paling baik ditunjukkan oleh ekstrak etil asetat. Dimana dapat menghambat bakteri biofilm terbanyak dengan kisaran diameter zona hambat 0,65 – 3,73 mm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki spektrum yang luas sebagai *antimicrofouling* yaitu dapat menghambat berbagai jenis bakteri biofilm. Ekstrak etil asetat berpotensi sebagai antifouling karena dapat menghambat berbagai macam bakteri biofilm yang merupakan penyebab terjadinya *microfouling*.

Daya sensitivitas bakteri biofilm terhadap ekstrak *S. duplicatum* menunjukkan bakteri biofilm lebih sensitif terhadap ekstrak etil asetat dari pada terhadap ekstrak metanol dan n-heksana. Perbedaan penghambatan pertumbuhan bakteri biofilm oleh ekstrak disebabkan oleh kandungan senyawa bioaktif yang terdapat di setiap ekstrak berbeda. Sehingga, menyebabkan kemampuan ekstrak sebagai senyawa *antifouling* berbeda juga.

Penelitian tentang penghambatan bakteri biofilm oleh ekstrak kasar *Sargassum* sp. telah banyak dilaporkan. Plouguerné *et al.* (2008), ekstrak diclorometana dan chloroform *S. muticum* dapat menghambat bakteri biofilm, macroalga dan jamur. ACIS lemak seperti asam palmitat dan turunan asam *phthalic*

dari ekstrak diclorometana *S. muticum* menunjukkan aktivitas *antifouling* yang signifikan (Bazes *et al.*, 2009). Menurut Thabard *et al.* (2011), ekstrak heksana dari *S. polyceratium* dapat menghambat pertumbuhan bakteri biofilm dan invertebrata laut. Habsah *et al.* (2011), telah melaporkan bahwa ekstrak metanol *S. granuliferum* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, *Vibrio alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*.

Iyapparaj *et al.* (2012), menyatakan bahwa ekstrak metanol, diclorometana dan heksana *S. wightii* memiliki aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri biofilm (genus *Pseudomonas*, *Vibrio* *Enterobacter*, *Serratia*, *Shigella* dan *Aeromonas*) dengan zona penghambatan berkisar antara 9-13 mm. Widowati *et al.* (2013), melaporkan ekstrak dari *S. polysistum*, *S. duplicatum* dan *S. echinocarpum* dengan pelarut yang berbeda dapat menghambat pertumbuhan bakteri biofilm yang diisolasi dari panel kayu. Hasil yang terbaik ditunjukkan oleh ekstrak metanol *S. polysistum* dengan menghambat 10 bakteri biofilm.

Langkah pertama untuk mengendalikan biofouling adalah dengan menghambat terjadinya proses penempelan larva dari invertebrata ataupun spora dari alga (*microfouling*), agar tidak membentuk lapisan tipis mikroba atau biofilm. Apabila pada tahap awal yaitu pembentukan bakteri biofilm (*microfouling*) dapat dihambat diduga dapat pula menghambat penempelan *macrofouling* sehingga biofouling dapat dikendalikan. Dengan demikian, ekstrak kasar *S. duplicatum* berpotensi sebagai antifouling yang ramah lingkungan karena pengendalian biofouling ini berasal dari metabolit sekunder organisme laut yaitu rumput laut. Metabolit sekunder inilah

yang diduga mengganggu pembentukan biofilm sehingga pertumbuhan bakteri biofilm dapat terhambat.

Ekstrak metanol *S. duplicatum* mengandung senyawa alkaloid, saponin, quinon, fenolik, steroid dan flavonoid. Sedangkan, ekstrak etil asetat *S. duplicatum* mengandung senyawa alkaloid, saponin, steroid dan flavonoid. Perbedaan kandungan senyawa antara ekstrak metanol dan etil asetat adalah adanya senyawa fenol dan quinon pada ekstrak metanol. Menurut Harborne (1987), fenol dan kuinon sering ditemukan dalam bentuk glikosida, terdapat dalam vakuola sel dan mudah larut dalam senyawa polar (metanol). Sehingga penelitian ini sejalan dengan Harborne (1987), karena senyawa fenol dan quinon hanya ditemukan pada ekstrak metanol.

Perbedaan senyawa yang terkandung disebabkan oleh penggunaan pelarut yang berbeda polaritas, pelarut polar akan mengikat senyawa yang bersifat polar dan pelarut semi polar akan mengikat senyawa yang bersifat semi polar. Hal ini sependapat dengan Nur dan Adijuwana (1989), senyawa menunjukkan kelarutan yang berbeda-beda dalam pelarut yang berbeda dan senyawa kimia akan mudah larut pada pelarut yang relatif sama kepolarannya.

Penelitian ini sedikit berbeda dengan Putranti (2013). Putranti (2013), menyatakan ekstrak etil asetat *S. duplicatum* mengandung senyawa alkaloid, steroid, saponin, fenol, flavonoid dan quinon. Untuk ekstrak menggunakan pelarut polar kandungan senyawa pada *S. duplicatum* memiliki kandungan yang sama walaupun menggunakan pelarut yang berbeda yaitu etanol. Perbedaan kandungan senyawa pada ekstrak etil asetat dapat terjadi, karena diduga terdapat perbedaan kuantitas antara penggunaan ekstrak dengan *reagen* dan waktu pengambilan sampel.

Alkaloid ditemukan dalam ekstrak metanol dan etil asetat. Alkaloid memiliki basa nitrogen pada rantai sikliknya dan mengandung beragam substituen yang bervariasi seperti gugus amina, amida, fenol, dan metoksi sehingga alkaloid bersifat semipolar (Putri *et al.*, 2013). Alkaloid mempunyai aktivitas antimikroba terhadap bakteri gram positif dan negatif (Cowan, 1999).

Saponin ditemukan dalam ekstrak metanol dan etil asetat. Saponin berfungsi sebagai antimikroba (antifouling) dengan cara menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba dengan cara berinteraksi dengan membran sterol (Zablotowicz *et al.*, 1996). Saponin merupakan glikosida triterpen yang memiliki sifat cenderung polar karena ikatan glikosidanya (Harbone, 1987). Senyawa saponin tersebut akan cenderung tertarik oleh pelarut yang bersifat polar seperti metanol (Astarina *et al.*, 2013).

Steroid ditemukan pada ekstrak metanol dan etil asetat. Steroid yang paling banyak adalah sterol yang merupakan steroid alkohol. Steroid merupakan golongan senyawa triterpenoid dan steroid dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan obat (Harborne, 1987). Oleh karena itu, steroid dapat tertarik oleh metanol yang bersifat polar.

Flavonoid ditemukan pada ekstrak metanol dan etil asetat. Flavonoid mempunyai tipe yang beragam dan terdapat dalam bentuk bebas (aglikon) maupun terikat sebagai glikosida. Aglikon polimetoksi bersifat non polar, aglikon polihidroksi bersifat semi polar, sedangkan glikosida flavonoid bersifat polar karena mengandung sejumlah gugus hidroksil dan gula (Harbone, 1987). Oleh karena itu golongan flavonoid dapat tertarik dalam pelarut metanol dan etil asetat. Cushnie and Lamb (2005), menyatakan banyak penelitian telah mengisolasi dan identifikasi senyawa



flavonoid dan struktur flavonoid yang memiliki antijamur, aktivitas antivirus dan antibakteri. Manner *et al.* (2013), menyatakan bahwa senyawa flavonoid dapat menghambat pertumbuhan bakteri biofilm yaitu *Staphylococcus aureus*. Menurut Putranti (2013), kandungan total flavonoid dalam ekstrak *S. duplicatum* terbesar dalam pelarut etil asetat, sebesar 107,66 mg QE/g ekstrak kemudian diikuti oleh pelarut n-heksana (89,11 mg QE/g) dan etanol (18,78 mg QE/g). Keberadaan senyawa flavonoid pada ekstrak etil asetat lebih banyak dibandingkan pada ekstrak metanol, sehingga aktivitas *antimicrofouling* yang terbentuk paling baik.

Genus *Achromobacter* dan genus *Flavobacterium cytophaga* merupakan jenis dari bakteri biofilm. Salta *et al.* (2009) menyatakan bahwa genus bakteri *Achromobacter* merupakan organisme fouling yang relevan untuk dijadikan bioassay pada aktivitas antifouling. Selain *Achromobacter*, organisme microfouling yang relevan dijadikan bioassay adalah *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Micrococcus*, *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Roseobacter* dan *Alteromonas*. Kelompok *Flavobacterium Cytophaga* ditemukan dalam air pantai, air lepas pantai, sedimen, ventilasi hidrotermal, dan daerah kutub (Alonso *et al.*, 2007). Webster and Negri (2006), berhasil mengisolasi bakteri biofilm laut dari daerah Antartika yang berasal dari substrat kaca yaitu *Gammaproteobacteria*, *Cytophaga/ Flavobacteria* of *Bacteroidetes* (CFB), *Verrucomicrobia* dan *Planctomycetales*.

## KESIMPULAN

Aktivitas ekstrak kasar dari *S. duplicatum* terhadap bakteri biofilm memberikan hasil positif yaitu terbentuknya zona hambat yang berarti ekstrak kasar dari *S. duplicatum* berpotensi sebagai antifouling. Ekstrak etil

asetat memberikan aktivitas antimicrofouling yang terbaik. Ekstrak *S. duplicatum* mengandung golongan senyawa alkaloid, saponin, quinon, fenolik, steroid, dan flavonoid. Berdasarkan identifikasi bakteri secara biokimia didapatkan hasil bahwa isolat K.10.4.1.5 adalah genus *Achromobacter*, sedangkan isolat F.10.3.1.2 adalah genus *Flavobacterium cytophaga*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia atas bantuan pendanaan melalui Beasiswa Bidik Misi yang telah membiayai penelitian ini dari awal sampai akhir. Terima kasih kepada seluruh Staf Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro, Staf Laboratorium MIPA Universitas Diponegoro, Staf Laboratorium Teknologi Pangan Universitas Katholik Soegijapranata, dan Staf Laboratorium MKHA BBPBAP, Jepara.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alonso, C., F. Warnecke, R. Amann and J. Pernthaler. 2007. High local and global diversity of *Flavobacteria* in marine plankton. *Environ. Microbial.*, 9 (5): 1253-1266.
- Asmaliyah, Sumardi, dan Musyafa. 2010. Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Nicolaia atropurpurea* Val. Terhadap Serangga Hama *Spodoptera litura* Fabricus (Lepidoptera: Noctuidae). *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*, 7 (5) : 253- 263.
- Astarina, N. W. G., Astuti, K. W., Warditiani, N. K. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2 (4): 1-7.
- Atmadja, W.S. 1996. Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia. Puslitbang Oseanologi-LIPI. Jakarta. 190 hlm.
- Bazes, A., A. Silkina, P. Douzenel, F. Faÿ, N.Kervarec, D. Morin, J. P.

- Berge and N. Bourgougnon. 2009. Investigation of the antifouling constituents from the brown alga *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt. *J. Appl. Phycol.*, 21 (4): 395-403.
- Bergey's. 2005. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Ed (2). The Proteobacteria, Part C the Alpha, Beta, Delta, and Epsilon proteobacteria. Cambridge University Press. London.
- Bhadury, P. and Phillip C. Wright. 2004. Exploitation of marine algae: biogenic compounds for potential antifouling applications. *Planta*, 219: 561-578.
- Chambers, L.D., K.R. Stokes, F.C. Walsh and R.J.K. Wood. 2006 Modern approaches to marine antifouling coatings. *Surface. Coat. Technol.*, 201: 3642-3652.
- Cushnie, T.P. and Lamb, A.J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents.*, 26: 343-356.
- Cowan, S. T. 1974. Manual for the Identification of Medical Bacteria. 2nd edition. Cambridge University Press. London. 238 hlm
- Cowan, M. M. 1999. Plants Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Rev.*, 12 (4) : 564-582.
- Da Gama, B. A.P., A. G.V. Carvalho, K. Weidner, A. R. Soares, R. Coutinho, B.G. Fleury, V. L. Teixeira and R. C. Pereira. 2008. Antifouling activity of natural products from Brazilian Seaweeds. *Bot. Mar.*, 51: 191-201.
- Harborne, JB. 1987. Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Edisi kedua. Terjemahan .K. Padmawinata dan I. Soediro. ITB. Bandung.
- Habsah, M., Kamariah, B., Aisha, M. R. S. , Julius Y. F. S., Desy, F. S , Asnulizawati, A., and Faizah, S. 2011. The Potential of Local *Sargassum granuliferum* Crude Extract as Antibacterial and Antifouling Properties. *Empowering Science, Technology and Innovation Towards a Better Tomorrow*: 721-726.
- Harborne, J. B. 1996. Metode fitokimia. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah. Bandung: ITB.
- Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Kismiyati, S. Subekti, R. W. N.Yusuf and R. Kusdarwati. 2009. Isolation and identification Gram Negative Bacteria at Lesions of Gold Fish (*Carassius auratus*) by Infestation Ectoparasite *Argulus sp.* *Jurnal Ilmiah Perikanan Kelautan*, 1(2): 129-134.
- Manner S, Skogman M, Goeres D, Vuorela P, Fallarero A .2013. Systematic exploration of natural and synthetic flavonoids for the inhibition of *Staphylococcus aureus* biofilms. *Int. J. Mol. Sci.* 14 (10): 19434-19451.
- Nur MA, Adijuwana HA. 1989. *Teknik Pemisahan dalam Analisis Biologi*. Bogor: Pusat Antar Universitas Ilmu Hayat, Institut Pertanian Bogor.
- Park, K., R. Kim, J. J. Park, H. C. Shin, J.S. Lee, H. S. Cho, Y. G. Lee, J. Kim, and I.S. Kwak. 2012. Ecotoxicological evaluation of tributyltin toxicity to the equilateral venus clam, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae). *Fish. Shellfish Immunol.*, 32 (3): 426-433.
- Plouguerné, E., C. Hellio, E. Deslandes, B. Véron, and V. Stiger-Pouvreau. 2008. Anti-microfouling activities in extracts of two invasive algae: *Grateloupia turuturu* and *Sargassum muticum*. *Bot. Mar.*, 51 (3): 202-208.
- Plouguerné, E., C. Hellio, C. Cesconetto, M. Thabard , K. Mason, B. Véron, R. C. Pereira, and B.A. P. da Gama. 2010. Antifouling activity as a function of population variation in *Sargassum vulgare* from the littoral of Rio de Janeiro (Brazil). *J Appl Phycol*, 22: 717-724.
- Putranti, R.I. 2013. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum duplicatum* dan *Turbinaria ornata* dari Perairan Jepara. [Tesis]. Program Studi Magister Manajemen Sumberdaya Pantai, Program Pasca Sarjana, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro, Semarang, 144 hlm.
- Radjasa, O.K., S.I.O. Salasia, A. Sabdono, and J. Weise. 2007. Antibacterial Activity of Marine Bacterium *Pseudomonas sp.* Associated with Soft Coral *Sinularia polydactyla* against



- Streptococcus equi* Subsp. *zooepidemicus*. *Int. J. Pharmacol.*, 3 (2): 170-174.
- Sabdon, A., O.K. Radjasa, dan Tonny Bachtar. 2005. Eksplorasi Senyawa Bioaktif Antifoulant Bakteri yang Berasosiasi dengan Avertebrata Laut sebagai Alternatif Penanganan Biofouling Laut. [Laporan Akhir Tahun Hibah Bersaing Perguruan Tinggi]. Pusat Studi Pesisir dan Laut Tropis, Universitas Diponegoro, Semarang, 26 hlm.
- Salta, M., L. Chambers, J. Wharton, R. Wood, J-Francois Briand, Y. Blache, and K. Stokes. 2009. Marine fouling organisms and their use in antifouling bioassays. *In* proceeding of: EUROCORR, 6 : 1-26.
- Schultz, M.P., J.A. Bendick, E.R. Holm and W.M. Hertel. 2011. Economic impact of biofouling on a naval surface ship. *Biofouling*, 27 (1): 87-98.
- Vallinayagam K, Arumugam R, Kannan Raja Ragupathi R, Thirumaran G and Anantharaman P, 2009, Antibacterial Activity of Some Selected Seaweeds From Pudumadam Coastal Regions. *Glob. J. Pharmacol.*, 3 (1): 50-52.
- Webster, N.S. and A.P. Negri. 2006. Site-specific variation in Antarctic marine biofilms established on artificial surfaces. *Environ. Microbiol.*, 8 (7): 1177-1190.
- Widowati, I., AB Susanto, Nathalie Bourgougnon and V. Stiger-Pouvreau. 2013. Research on Antimicrobial Compound Extracted from Marine Seaweeds Belonging to Sargassaceae species (Phaeophyta, Fucales) Potential Application as Biofuel. [Final Report International Research Collaboration and Scientific Publication].
- Yebra Diego Meseguer, Søren Kiil, and Kim Dam-Johansen. 2004. Antifouling technology—past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings. *J. Prog. Org. Coat.*, 50: 75-104.
- Zablotowicz, R. M., R. E. Hoagland, S. C. Wagner. 1996. Effects of Saponin on The Growth and Activity of Rhizosphere Bacteria. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 405: 83-95.